

## 3.0 T<sup>1</sup>H - Magnetic Resonance Spectroscopy を用いた小児期及び若年成人期における大脳皮質 glutamate の解析

清水 満 美

新潟大学大学院医歯学総合研究科生体機能調節医学専攻  
 感覚統合医学講座脳機能解析学分野  
 (主任：中田 力教授)

### Assessment of Cerebral Cortex Glutamate in Children and Young Adulthood Using Proton Magnetic Resonance Spectroscopy on a 3.0 T MR System

Mami SHIMIZU

*Division of Integrated Neuroscience, Department of Sensory and Integrative Medicine,  
 Course for Biological Functions and Medical Control, Graduate School of Medical and  
 Dental Sciences, University of Niigata  
 (Director: Prof. Tsutomu NAKADA)*

#### 要 旨

【目的】本研究は、小児期から若年成人期にかけての脳成熟に伴う、大脳皮質および小脳皮質のグルタミン酸 (Glu) の変化を、3.0T proton magnetic resonance spectroscopy (<sup>1</sup>H-MRS) を用いて明らかにすることを目的とした。

【方法】小児群 (4-13 歳, 11 例), 若年成人群 (18-33 歳, 11 例) から成る健常人 22 例を対象とした。本研究は新潟大学倫理委員会の承認のもと、書面によるインフォームドコンセントを得て施行した。3.0T MR 装置を用いて、前頭葉皮質、後頭葉皮質および小脳虫部におけるシングルボクセル <sup>1</sup>H-MRS を撮像した。スペクトルの解析には LCMoDel を用い、Glu のクレアチン化合物 (Cr) に対する比を算出した。

【結果】前頭葉皮質及び後頭葉皮質における Glu/Cr は年齢と負の相関を示した。小脳虫部における Glu/Cr は年齢との相関を示さなかった。

【結論】本研究により、小児期から若年成人期にかけて、大脳皮質の Glu/Cr が年齢依存性に低下することが明らかにされた。この Glu/Cr の低下は、大脳の神経回路網が成熟する過程で生じる、皮質シナプス密度の低下と代謝コンパートメントの変化を反映していると考えられた。大脳皮質の Glu/Cr は、3.0T <sup>1</sup>H-MRS を用いることにより生体で非侵襲的かつ簡便に評価可能であり、大脳皮質における神経回路網の成熟を反映する指標として有用である可能性がある。

キーワード：MR spectroscopy, グルタミン酸, 脳成熟, 神経回路網

Reprint requests to: Mami SHIMIZU  
 Division of Integrated Neuroscience  
 Department of Sensory and Integrative Medicine  
 Course for Biological Functions and  
 Medical Control Graduate School of Medical and  
 Dental Sciences University of Niigata  
 1-757 Asahimachi - dori Chuo - ku,  
 Niigata 951-8585 Japan

別刷請求先：〒951-8585 新潟市中央区旭町通 1-757  
 新潟大学大学院医歯学総合研究科生体機能調節医学  
 専攻感覚統合医学講座脳機能解析学分野

清水 満 美

## 緒 言

ヒトの脳は、小児期から若年成人期まで続く神経回路網の再編を通じて、情報処理機能を構築し、成熟していくと考えられている。この脳成熟過程に伴う生化学的変化を生体で明らかにすることは、ヒトの脳成熟についての理解を深める上で重要であると考えられるが、proton magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$ -MRS)は、生体で非侵襲的に生化学的パラメーターを定量可能であることから、このような目的に適った手法であると言える。実際、これまで $^1\text{H}$ -MRSは多くのヒト脳成熟研究に用いられ、主として乳幼児期の脳成熟に関する様々な知見が得られた。即ち、主にN-acetylaspartate (NAA)、クレアチン化合物 (Cr) 及びコリン化合物 (Cho) の解析が行われ、これらのパラメーターが、生後数年間に大きく変化することが明らかにされた<sup>1)2)</sup>。

一方、小児期から若年成人期にかけては、神経回路網の再編が活発に行われるにも関わらず、これまでの $^1\text{H}$ -MRSを用いた検討では、NAA, Cr, Choのいずれにおいても有意な変化は捉えられていない。さらに、高磁場MR装置を用いることによって、NAA, Cr, Choに加えグルタミン酸 (Glu) の定量も可能となるが、これまで高磁場MR装置を用いて、小児期から若年成人期にかけてのGluの動態を検討した報告はない。しかしながら、Gluは脳において主要な興奮性神経伝達物質であり、神経回路網の再編の基盤となるシナプス伝達効率の変化に重要な役割を果たしていることを考慮すると、神経回路網の成熟に伴いGlu濃度に変化する可能性が考えられる。高磁場MR装置を用いることで、小児期から若年成人期にかけての脳成熟に伴うGluの変化が明らかになれば、神経回路網の成熟に伴う生理学的変化のみならず、その異常が疑われる様々な発達障害の病態理解につながる事が期待される。

本研究では、小児期から若年成人期にかけての脳成熟に伴うGluの変化を明らかにすることを目的として、3.0T  $^1\text{H}$ -MRSを用いて健常人の前頭葉皮質、後頭葉皮質および小脳虫部における

Gluの評価を行った。

## 対象と方法

### 1. 対象

本研究では、小児群 (4-13歳, 11例)、若年成人群 (18-33歳, 11例) から成る健常人22例を対象とした。本研究は新潟大学倫理委員会の承認のもと、書面によるインフォームドコンセントを得て施行した。

被検者は神経学的診察と面接を行い、発達異常を示唆する徴候がないこと、医師による治療を受けていないこと、および違法な薬物やアルコールを常用していないことを確認した。また、若年の被検者については、これまでの発達歴や行動特徴について両親に問診し、いずれも異常がないことを確認した。

### 2. MRI 撮像方法

Signa 3.0T MR装置 (General Electric Medical System, Waukesha, WI) 及び8チャンネルフェーズドアレイコイルを全ての撮像に使用した。高速spin echo法により高解像度形態画像を撮像した後、シングルボクセルMRS (SV-MRS) の関心領域を前頭葉皮質、後頭葉皮質 (20 × 25 × 12 mm = 6 ml) 及び小脳虫部 (20 × 20 × 15 mm = 6 ml) にそれぞれ設定した (図1. A)。SV-MRSは、point-resolved spectroscopy法 (PRESS法) を用いて以下のパラメーターで行った: TR = 2,000ms, TE = 80ms, NEX = 128回, data point = 4096, spectral width = 5000Hz。この様なパラメーターでSV-MRSを撮像した場合、2.35ppmのピークはほぼGluからなり、含まれるグルタミンと $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) は僅かであることが明らかにされているため<sup>3)-5)</sup>、このピークをGluとした。1被検者あたりの総撮像時間は40分であった。なお、被検者には撮像前に、予定された撮像方法と順序について十分な説明が行われ、いかなる鎮静処置も行わなかった。

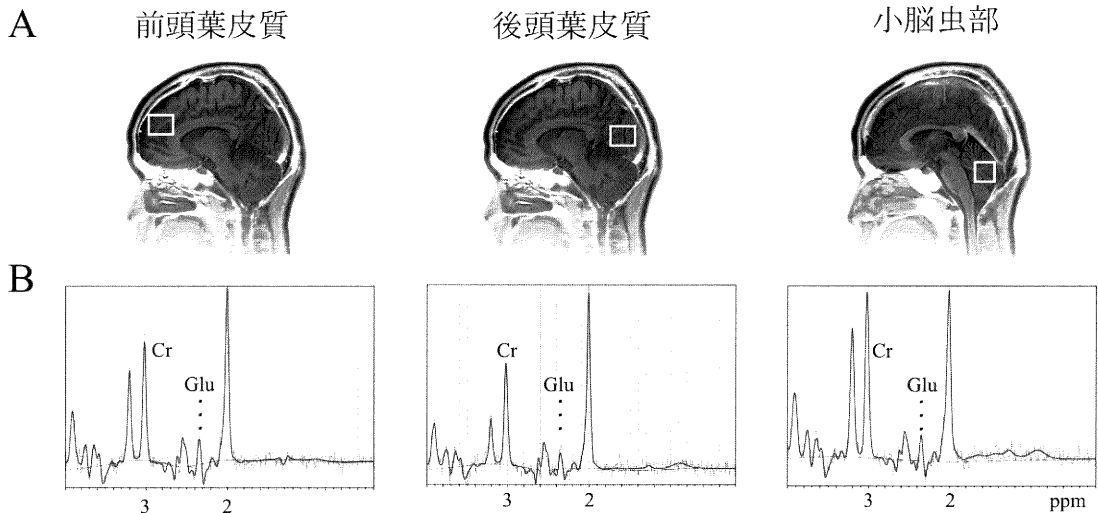


図1 関心領域の設定と典型的なスペクトル

- A. 前頭葉皮質、後頭葉皮質及び小脳虫部に示したシングルボクセル磁気共鳴スペクトロスコピーの関心領域。  
B. 前頭葉皮質、後頭葉皮質及び小脳虫部のスペクトル。  
略号：Cr; creatine, Glu; glutamate.

### 3. データ解析

測定で得られたスペクトルの解析には、LCModel (Stephen Provencher Inc., Oakville, Ontario, Canada) を用い<sup>6)</sup>、各々の関心領域における Glu/Cr を算出した。代謝物推定濃度の信頼性は LCModel で算出されるクラメル・ラオの下限 (CRLB) を基準に判断し、CRLB が 20% 未満のものだけを採用した。

### 4. 統計処理

統計計算には SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) を用いた。各々の関心領域における Glu/Cr と年齢との相関を、スピアマン相関係数を用いて検討した。

## 結 果

典型的なスペクトルを図 1. B に示す。前頭葉皮質における Glu/Cr は年齢と負の相関を認め ( $r = -0.600, p = 0.003$ )、また後頭葉皮質でも同

様に負の相関を認めた ( $r = -0.533, p = 0.011$ ) (図 2)。一方、小脳虫部における Glu/Cr は年齢との相関を示さなかった ( $r = -0.125, p = 0.580$ ) (図 2)。

## 考 察

本研究により、小児期から若年成人期にかけて、大脳皮質の Glu/Cr が年齢依存性に低下することが示された。この Glu の低下は、大脳の神経回路網が成熟する過程で生じる、以下に述べる少なくとも 2 つの生理学的変化を反映している可能性がある。

ヒトでは、剖検脳を用いた微細構造研究によって、幼児期から若年成人期にかけて前頭葉、側頭葉および後頭葉皮質のシナプス密度が 50% 近く低下することが報告されている<sup>7)</sup>。このシナプス密度低下は、神経回路網の再編に伴い、不要なシナプスが刈り込まれる<sup>8)</sup> 結果生じると考えられている。Glu はシナプス前末端に最も豊富に存在

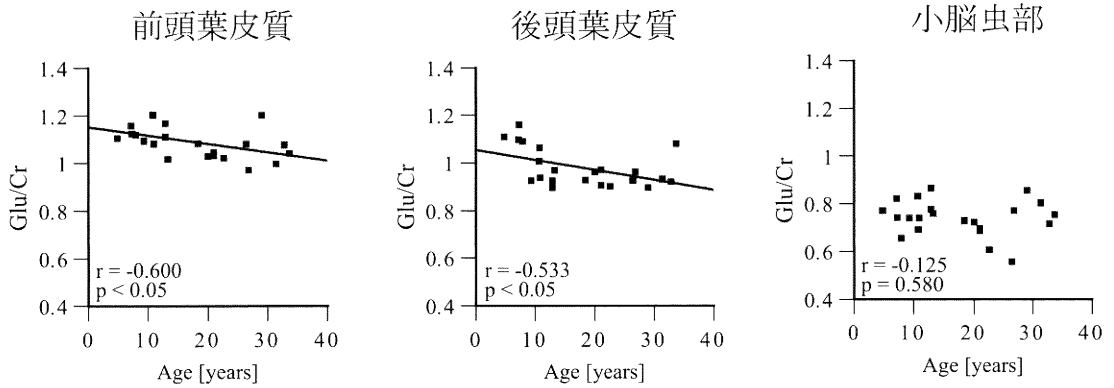


図2 健康人における前頭葉皮質、後頭葉皮質及び小脳虫部における Glu/Cr と年齢の相関関係

前頭葉皮質と後頭葉皮質において、Glu/Cr は年齢と負の相関を示した ( $p < 0.05$ )。

略号：Cr; creatine, Glu; glutamate.

していることから<sup>9)</sup>、神経回路網の再編に伴うシナプス密度低下とともに、その濃度が低下する可能性が考えられる。実際、アカゲザルの後頭葉皮質では、シナプス密度と Glu 濃度がほぼ同時期に低下することが報告されている<sup>10)11)</sup>。従って、本研究で明らかにされたヒト大脳皮質の Glu/Cr 低下は、神経回路網の再編にともなうシナプス密度低下を反映している可能性がある。

さらに、大脳の神経回路網成熟に伴う Glu 代謝の変化も Glu 濃度に影響し得る。脳では、グルタミンから Glu を合成する代謝経路は神経細胞に、Glu からグルタミンを合成する代謝経路はグリア細胞に局在している。このような代謝コンパートメントを反映し、Glu の大半が神経細胞に、グルタミンの大半がグリア細胞に偏在している。ヒトでは、大脳成熟とともにこれらの代謝コンパートメントがどのように変化するかは明らかにされていない。しかしながらラットの大脳皮質では、シナプス密度の低下が生じる生後 21 日以降に<sup>12)</sup>、代謝コンパートメントの変化に伴いグルタミンから Glu への変換が減少することが予想され<sup>13)-16)</sup>、実際 Glu/グルタミンの比率の低下が報告さ

れている<sup>17)18)</sup>。この Glu/グルタミンの低下は、グルタミンが Glu のみならず GABA の前駆体でもあることを考慮すると、大脳皮質の神経回路網成熟に伴い、GABA 抑制系が成熟し、Glu 作動性シナプス可塑性が低下するという観察結果<sup>19)</sup>に矛盾しないと思われる。ヒトにおいてもラットと同様に、大脳の神経回路網成熟に伴い、興奮性・抑制性シナプス伝達のバランスに変化が生じることが想定されている。従って、我々が捉えた小児期から若年成人期にかけての大脳皮質 Glu 低下は、神経回路網成熟過程における、興奮性・抑制性シナプス伝達のバランスの変化と、それに伴う代謝コンパートメントの変化を反映している可能性がある。

一方、小脳虫部においては、Glu/Cr の年齢依存性の変化は認められなかった。小脳成熟に伴う皮質のシナプス密度や Glu 代謝の変化については、ヒトのみならず動物においても報告がない。しかしながら、成体ラットにおいて、小脳皮質シナプスの大半を占める平行線維とプルキンエ細胞間のシナプスは、その大半が伝達機能を持たないサイレントシナプスであるものの<sup>20)</sup>、平行線維から

の高頻度刺激に応じて伝達機能を回復すると報告されている<sup>21)</sup>。このことは、大脳皮質では年齢と共にそのシナプス可塑性が低下していくのに対し、小脳皮質においては、成体に至るまで比較的シナプス可塑性が保たれることを示唆している。従って、本研究において、小脳虫部の Glu 濃度が年齢依存性の変化を示さなかったことは、このような大脳と小脳における皮質シナプス可塑性の相違を反映している可能性がある。

本研究により、ヒト大脳皮質において、Glu/Cr が小児期から成人期にかけて年齢依存性に低下することが明らかにされた。この Glu/Cr の低下は、大脳の神経回路網が成熟する過程で生じる生理学的変化、すなわち皮質のシナプス密度低下と代謝コンパートメントの変化を反映していると考えられる。大脳皮質の Glu/Cr は、3.0T <sup>1</sup>H-MRS を用いることにより生体で非侵襲的かつ簡便に評価可能であり、大脳皮質における神経回路網の成熟を反映する指標として有用である可能性がある。また、自閉症をはじめとした神経回路網の成熟異常が想定されている様々な発達障害においても、大脳皮質の Glu/Cr を評価することにより、その病態理解がさらに深まることが期待される。

#### 謝 辞

ご指導いただきました新潟大学脳研究所統合脳機能研究センター中田力教授、鈴木雄治准教授、五十嵐博中准教授、山田謙一助教に深謝いたします。また研究を支えていただきました統合脳機能研究センターの皆様にも併せて感謝いたします。

#### 文 献

- 1) Kreis R, Ernst T and Ross BD: Development of the human brain: in vivo quantification of metabolite and water content with proton magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med* 30: 424-437, 1993.
- 2) Toft PB, Christiansen P, Pryds O, Lou HC and Henriksen O: T1, T2, and concentrations of brain metabolites in neonates and adolescents estimated with H-1 MR spectroscopy. *J Magn Reson Imaging* 4: 1-5, 1994.
- 3) Ohkubo M, Kimura T, Matsuzawa H, Matsuda T, Kwee IL and Nakada T: Evaluation of efficacy of an automated single-voxel proton MRS algorithm on a 3T system. *Magn Reson Med* 1: 121-124, 2002.
- 4) Kimura T, Ohkubo M, Igarashi H, Kwee IL and Nakada T: Increase in glutamate as a sensitive indicator of extracellular matrix integrity in peritumoral edema: a 3.0-tesla proton magnetic resonance spectroscopy study. *J Neurosurg* 106: 609-613, 2007.
- 5) Schubert F, Gallinat J, Seifert F and Rinneberg H: Glutamate concentrations in human brain using single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3 Tesla. *Neuroimage* 21: 1762-1771, 2004.
- 6) Provencher SW: Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 30: 672-679, 1993.
- 7) Huttenlocher PR and Dabholkar AS: Regional differences in synaptogenesis in human cerebral cortex. *J Comp Neurol* 387: 167-178, 1997.
- 8) Kano M and Hashimoto K: Synapse elimination in the central nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 19: 154-161, 2009.
- 9) Clements JR and Beitz AJ: An electron microscopic description of glutamate-like immunoreactive axon terminals in the rat principal sensory and spinal trigeminal nuclei. *J Comp Neurol* 309: 271-280, 1991.
- 10) Bourgeois JP and Rakic P: Changes of synaptic density in the primary visual cortex of the macaque monkey from fetal to adult stage. *J Neurosci* 13: 2801-2820, 1993.
- 11) Rassin DK, Sturman JA and Gaull GE: Sulfur amino acid metabolism in the developing rhesus monkey brain: interrelationship of taurine and glutamate. *Neurochem Res* 7: 1107-1118, 1982.
- 12) Micheva KD and Beaulieu C: Quantitative aspects of synaptogenesis in the rat barrel field cortex with special reference to GABA circuitry. *J Comp Neurol* 373: 340-354, 1996.
- 13) Boulland JL, Rafiki A, Levy LM, Storm-Mathisen

- J and Chaudhry FA: Highly differential expression of SN1, a bidirectional glutamine transporter, in astroglia and endothelium in the developing rat brain. *Glia* 41: 260 - 275, 2003.
- 14) Patel AJ, Hunt A and Hayashi M: Effect of thyroid deficiency on the regional development of glutaminase, a glutamatergic neuron marker, in the rat brain. *Int J Dev Neurosci* 5: 295 - 303, 1987.
- 15) Furuta A, Rothstein JD and Martin LJ: Glutamate transporter protein subtypes are expressed differentially during rat CNS development. *J Neurosci* 17: 8363 - 8375, 1997.
- 16) Patel AJ, Hunt A and Tahourdin CSM: Regional development of glutamine synthetase activity in the rat brain and its association with the differentiation of astrocytes. *Developmental Brain Research* 8: 31 - 37, 1983.
- 17) Tkác I, Rao R, Georgieff MK and Gruetter R: Developmental and regional changes in the neurochemical profile of the rat brain determined by in vivo <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *Magn Reson Med* 50: 24 - 32, 2003.
- 18) Patel AJ and Balázs R: Manifestation of metabolic compartmentation during the maturation of the rat brain. *J Neurochem* 17: 955 - 971: 1970.
- 19) Huang ZJ, Kirkwood A, Pizzorusso T, Porciatti V, Morales B, Bear MF, Maffei L and Tonegawa S: BDNF regulates the maturation of inhibition and the critical period of plasticity in mouse visual cortex. *Cell* 98: 739 - 755, 1999.
- 20) Isope P and Barbour B: Properties of unitary granule cell → Purkinje cell synapses in adult rat cerebellar slices. *J Neurosci* 22: 9668 - 9678, 2002.
- 21) Jörntell H and Hansel C: Synaptic memories upside down: bidirectional plasticity at cerebellar parallel fiber - Purkinje cell synapses. *Neuron* 52: 227 - 238, 2006.

(平成23年1月18日受付)

---